

УДК 576.895.771 : 593.192.6+591.11

© 1990

СВЯЗЬ МЕЖДУ КОЛИЧЕСТВОМ КРОВИ, КОТОРОЕ ВЫПИВАЮТ КОМАРЫ, И ИХ ЗАРАЖАЕМОСТЬЮ ВОЗБУДИТЕЛЕМ МАЛЯРИИ

В. В. Ясюкевич, С. П. Расницын, А. Б. Званцов

Установлено, что на заражаемость комаров плазмодиями малярии влияет относительное (к полной порции) количество крови зараженного донора, которое он выпил, т. е. то, насколько принятая порция приближается к предельной (при которой комары прекращают кровососание). Полученные факты свидетельствуют о том, что выживаемость плазмодиев в комаре (вероятнее всего, прохождение оокинета на наружную сторону средней кишки) связана со степенью ее растяжения при кровососании, причем предельное растяжение может быть достигнуто и при докармливании на здоровом доноре.

Одним из важнейших этапов эпидемического процесса при малярии является заражение переносчиков. Раскрытие механизмов, определяющих количественные и качественные характеристики этого этапа, — необходимый шаг в процессе поиска средств и методов прерыва передачи и тем самым борьбы с заболеваемостью.

Общие соображения заставляют предполагать, что одним из факторов, определяющих заражаемость комара, является количество выпитой им крови: чем больше крови, тем (при прочих равных условиях) больше гаметоцитов, тем выше уровень зараженности переносчика. И так до тех пор пока не будет превышена «оптимальная доза», которая, по мнению Алексеева (1985), существует для любой пары возбудитель—переносчик. Кроме того, увеличение количества выпитой крови усиливает растяжение средней кишки, что едва ли безразлично для прохождения оокинета через ее стенки.

Несмотря на то что ответ на вопрос о влиянии количества принятой комаром крови на его зараженность представляет интерес и для эпидемиологов (в плане построения модели процесса), и для экспериментаторов (в плане оценки результатов опытов, связанных с заражением переносчиков), он исследован еще недостаточно полно. Задача предлагаемой работы — оценить влияние количества выпиваемой крови и степени насыщения комаров на их заражаемость.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на лабораторной модели малярии: *Plasmodium gallinaceum* (возбудитель), *Aedes aegypti* (переносчик), цыпята (позвоночный хозяин). Комаров заражали на цыплятах с уровнем паразитемии 2—3 балла по шкале Немировской (1941).

Изменение количества выпитой комарами крови достигалось двумя способами: 1) специально выращивались разные партии крупных и мелких особей, которые соответственно выпивали разное количество крови для полного насыщения; 2) при кормлении одной группы комаров части особей не давали возмож-

ность выпить полную порцию крови, а отбирали их в отдельный садок. Количество выпитой крови определяли путем взвешивания комаров до и сразу же после кровососания. В одной серии опытов (она специально оговорена в тексте) комаров, получивших неполную порцию крови, докармливали на здоровом цыпленке до насыщения. Эта операция проводилась практически тотчас же после кормления на зараженном доноре.

В каждом опыте сравниваемые группы комаров имели один и тот же возраст (от опыта к опыту возраст варьировал в пределах 2—4 сут). Сравнимые группы кормили кровью одного и того же донора одновременно, что обеспечивало максимальную идентичность получаемой ими крови (и вместе с ней возбудителя). И до и после заражающего кормления комаров держали в одном и том же термостате при $28 \pm 0.5^\circ$, и влажности около 90 %. В период спорогонии комары имели возможность пить 10 %-ный раствор глюкозы, но крови не получали, так как известно, что возбудитель способен успешно развиваться в переносчике без повторного кровососания (Расницын, Жарова, 1984). Анализ зараженности комаров проводился дважды: на 4-е и 10-е сутки после заражающего кормления. В первый раз определялся ооцистный индекс (доля комаров, имеющих ооцисты) и обилие ооцист (среднее число ооцист на одного комара), второй раз — спорозоитный индекс (доля комаров, имеющих спорозоиты). По соотношению ооцистного и спорозоитного индексов вычислялось сохранение возбудителя в переносчике. Статистическая обработка проведена обычными методами, принятыми в биометрии (Плохинский, 1961). Объем исследованного материала представлен вместе с результатами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Заражаемость комаров разных размеров. В табл. 1 приведены данные, характеризующие размеры крупных и мелких комаров и количество крови, которое они выпивают. Из табл. 1 видно, что вес крови пропорционален весу

Т а б л и ц а 1
Сравнение заражаемости комаров разного размера
Comparison of the infection of mosquitoes of different sizes

Номер группы	Средний вес самок			Средний вес выпитой крови		Вес крови к весу самки, %	Зараженность		
	n	мг	%	мг	%		n	о, %	оо
1K	50	2.8	100	2.6	100	93	20	90	26
1M	80	1.3	46	1.0	38	77	23	78	32
2K	50	2.5	100	2.2	100	88	23	96	95
2M	50	1.5	60	0.9	41	60	27	93	83
3K	50	2.4	100	2.0	100	83	20	100	45
3M	50	1.4	58	1.0	50	71	35	100	53
4K	50	2.5	100	2.2	100	88	27	70	24
4M	100	1.3	52	1.1	50	85	33	82	24
5K	50	2.5	100	2.5	100	100	24	92	21
5M	100	1.3	52	1.5	60	115	32	88	20
6K	100	2.2	100	2.3	100	104	28	61	7
6M	100	1.3	59	1.5	65	115	21	67	10

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2—4: n — число исследованных особей; д — доля зараженных; оо — среднее число ооцист. Индексы при номере группы: К — крупные, М — мелкие особи.

комаров ($R=0.9 \pm 0.1$) и составляет в среднем 91 % от веса голодных особей. Поскольку велики различия в весе сравниваемых групп комаров (в среднем в 1.8 раза), соответственно велики и различия в количестве выпитой ими крови (в среднем в 2.0 раза).

Несмотря на разницу в количестве выпитой крови, различия в зараженности крупных и мелких комаров не выявились (табл. 1). Из 6 опытов доля зараженных среди крупных особей была выше, чем среди мелких лишь в половине случаев, да и то не более чем на 12 %. Аналогично и уровень заражения, измеряемый числом ооцист, был практически одинаковым: лишь в половине опытов число ооцист у крупных комаров было выше, чем у мелких. В среднем по всем опытам число ооцист у крупных особей (40) почти в точности равно числу ооцист у мелких (42), а средняя доля зараженных (85 %) совпала.

Не обнаружено разницы и в сохранении возбудителя в сравниваемых группах комаров (табл. 2). Показатели сохранения для крупных и мелких особей

Т а б л и ц а 2

Сохранение возбудителя в комарах, выпивших разное количество крови
(средние данные по всем опытам каждой серии)

Preservation of the agent in mosquitoes which sucked out different blood portions
(average data on all experiments of each series)

Сравниваемые группы	Число опытов	n	Зараженность ооцистами, д, %	n	Зараженность спорозонтами, д, %	Сохранение возбудителя, %
Крупные особи	4	96	88	38	50	57
Мелкие особи	4	127	91	65	59	65
Особь, выпившие полную порцию зараженной крови	8	300	82	129	65	79
Особь, выпившие неполную порцию зараженной крови и докормленные на здоровом доноре	8	251	55	144	46	84

отличаются менее чем на 10 %. Конечно, отсутствие статистически значимой разницы не является доказательством сходства. Но тот факт, что различия не выявились в большом числе опытов, в которых использовано более 300 особей, говорит о том, что если они и имеются, то весьма слабые. Отсутствие разницы в заражаемости комаров разных размеров является подтверждением и объяснением опубликованных ранее данных (Званцов и др., 1989) о том, что на заражаемость комаров не влияют условия, в которых происходило их развитие.

2. Сравнение заражаемости особей, выпивших полную и неполную порцию зараженной крови. В тех случаях, когда комарам не давали возможности закончить кровососание, т. е. выпить полную порцию крови (табл. 3), их зараженность резко снижалась. Причем это снижение не было пропорционально недостатку крови: когда комары выпивают 20—30 % от полной порции, они почти не заражаются (относительная доля зараженных особей не превышает 6 %, а относительное обилие возбудителя — 2 %); когда же количество выпитой крови достигает 40 и 50 % от полной порции, зараженность резко повышается. Важно отметить, что значение имеет не абсолютное количество выпитой крови, а относительное (к весу самки). В опытах 7—12 (табл. 3) использованы крупные особи, высасывающие в норме более 2.2 мг крови, но когда им удавалось получить только 0.5—0.7 мг они почти не заражались. В опытах 12 и 13, где использованы мелкие особи (насасывающие в норме менее 1.5 мг крови), то же количество крови (0.6 мг) приводило к повышению заражаемости. И все же, даже приняв почти половинную порцию крови, крупные комары заражаются достоверно хуже, чем с полной порцией, в отличие от мелких особей, которые по заражаемости не отстают от крупных. Считать полученные данные результатом ошибки репрезентативности не приходится — ее вероятность менее 0.01. Если же учесть, что аналогичные данные получены в следую-

Т а б л и ц а 3

Заражаемость комаров при законченном (полная порция)
и незаконченном (неполная порция) кровососании

Infection of mosquitoes which completed (full portion)
and did not complete (not full portion) bloodsucking

Номер группы	Выпито крови		n	Зараженность	
	мг	%		д, %	оо
7П	2.6	100	20	90	26
7Н	0.5	19	18	6	<1
8П	2.2	100	23	96	95
8Н	0.5	23	26	0	0
9П	2.4	100	20	100	45
9Н	0.7	29	35	3	<1
10П	2.5	100	24	92	21
10Н	0.6	24	21	0	0
11П	2.3	100	28	61	7
11Н	0.6	26	33	0	0
12П	1.5	100	32	88	20
12Н	0.6	40	27	41	1
13П	1.1	100	33	82	24
13Н	0.6	55	15	73	10

П р и м е ч а н и е. Индексы у номера группы означают: П — комары, выпившие полную порцию крови; Н — комары, выпившие не полную порцию крови.

Т а б л и ц а 4

Влияние на заражаемость комаров их докармливания
на здоровом доноре

Effect of feeding up on a healthy donor on the infection
of mosquitoes

Номер группы	Зараженная кровь		Незараженная кровь (мг)	n	Зараженность	
	мг	%			д, %	оо
14П	2.6	100	0	31	65	12
14Н	0.3	12	0	32	3	<1
14Д	0.3	12	2.3	58	34	3
15П	2.6	100	0	51	41	7
15Н	0.4	15	0	30	0	0
15Д	0.4	15	2.2	46	41	8
16П	2.5	100	0	48	73	14
16Н	0.6	24	0	32	0	0
16Д	0.6	24	2.0	68	72	10
17П	2.3	100	0	39	97	63
17Н	0.2	9	0	33	3	1
17Д	0.2	9	2.1	52	31	1
18П	2.0	100	0	34	35	1
18Н	0.3	15	0	19	0	0
18Д	0.3	15	1.6	32	6	<1
19П	2.4	100	0	47	89	30
19Н	0.4	17	0	30	7	<1
19Д	0.4	17	2.1	45	53	3
20П	2.9	100	0	52	71	30
20Н	0.6	21	0	32	0	0
20Д	0.6	21	2.4	44	52	6
21П	3.2	100	0	59	90	77
21Н	0.4	12	0	25	4	<1
21Д	0.4	12	2.9	35	57	10
22П	3.0	100	0	32	97	72
22Н	0.7	23	0	32	6	1
22Д	0.7	23	2.3	47	64	16

П р и м е ч а н и е: Индекс Д при номере группы означает комаров, выпивших не полную порцию зараженной крови и докармливаемых на незараженном доноре.

шей серии из 9 опытов (см. ниже), то надежность вывода возрастает еще более ($P > 0.9999$).

3. Влияние докармливания комаров кровью здорового донора на их заражаемость. Тот факт, что на заражаемость влияет относительное количество крови, заставляет предполагать, что в этом процессе большую роль играет растяжение стенок средней кишки. Чтобы проверить это предположение, была поставлена третья серия опытов, где комарам давали возможность заполнить среднюю кишку до отказа, не увеличивая при этом количества заглоченных гаметоцитов. Это достигалось тем, что им не давали выпить полную порцию крови на зараженном доноре, а пересаживали на незараженного, где они уже докармливались досыта. (Количество принятой комарами крови приведено в табл. 4).

Как и в предыдущей серии опытов, комары, не получившие полной порции крови, заражались хуже контрольных (с полной порцией) (табл. 4). В 4 опытах из 9 они не заразились совсем. В среднем доля зараженных среди недокармливаемых составила менее 3 %, что в 30 раз ниже, чем в контроле, а обилие ооцист у них в среднем было в 250 раз ниже, и это при том, что крови (а следовательно, и возбудителя) они получали меньше лишь в 4—12 раз.

Если комары, получив не полную порцию зараженной крови, были потом докармливаны на здоровом доноре, заражаемость их резко повышалась (табл. 4). Она превышала таковую недокармливаемых (вероятность случайной разницы не более 0.002). Особенно резко возрастала доля зараженных особей, достигая в среднем более половины (62 %) от этого показателя для контрольных комаров. Обилие ооцист возросло не так резко. Оно оказалось близким к тому, которое следовало ожидать, исходя из величины принятой ими порции зараженной крови. Эти комары в среднем выпили 0.4 мг зараженной крови на особь, что составляет 16.0 % от средней полной порции; обилие ооцист у них в среднем 6.3 на особь, что составляет 18.7 % от среднего обилия ооцист у контрольных особей.

Докармливание зараженного переносчика на здоровом доноре не отразилось на сохранении возбудителя (табл. 2). В среднем 86 % особей, имевших ооцисты, имели затем спорозоитов в слюнных железах. У контрольных особей этот показатель примерно таков же (79 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные факты свидетельствуют о том, какую большую роль играет степень заполнения средней кишки комара кровью в процессе заражения его возбудителем малярии. Не так, оказывается, важно абсолютное количество выпитой крови (и соответственно количество заглоченных гаметоцитов), как тот факт, напился ли комар до отказа (до предельного расширения средней кишки), или принял неполную порцию. В последнем случае заражение происходит очень редко. Опыты показали, что для успешного развития возбудителя не обязательно, чтобы вся порция крови была от одного донора, оно происходит и при докармливании на незараженном доноре. При этом число развившихся возбудителей (число ооцист) пропорционально количеству принятой зараженной крови (т. е. числу заглоченных гаметоцитов). Обнаруженная зависимость доказывает правомерность предположения Алексеева (1986) о том, что восприимчивость комаров к плазмодиям связана со степенью слипания клеток эпителия средней кишки переносчика. Вероятно, при растягивании выпитой кровью клетки эпителия средней кишки уплощаются и слипание между ними ослабевает, что может облегчить оокинетам проникновение на наружную сторону — под базальную мембрану.

В эпидемиологическом плане полученные данные подтверждают, как важно не допускать контакта комаров с больными и паразитоносителями. Если комар

выпьет даже ничтожное количество зараженной крови и докормится на здоровом доноре, он станет эпидемически опасным.

Список литературы

- Алексеев А. Н. Возможное значение фактора оптимальных заражающих доз в системе возбудитель—переносчик при малярии // Мед. паразитол. 1985. № 3. С. 10—17.
- Алексеев А. Н. Взаимоотношения возбудителя малярии и беспозвоночного хозяина // Малярийные паразиты млекопитающих. Протозоология. Вып. II. Л.: Наука, 1986. С. 53—77.
- Званцов А. Б., Расницын С. П., Ясюкевич В. В. Влияние условий развития комаров *Aedes aegypti* на их заражаемость *Plasmodium gallinaceum* Brumpt // Мед. паразитол. 1989. № 6. С. 68—71.
- Немировская А. И. Закон реинокуляции при малярии // Мед. паразитол. 1941. № 3—4. С. 324—339.
- Плохинский Н. А. Биометрия. Новосибирск, 1961. 364 с.
- Расницын С. П., Жарова А. Н. Отсутствие влияния повторного кровососания комаров на их заражаемость возбудителем малярии // Паразитология. 1984. Т. 18, № 2. С. 179—181.
- ИМПитМ им. Е. И. Марциновского МЗ СССР, Москва

Поступила 12.11.1989

CONNECTION BETWEEN THE BLOOD AMOUNT ENGORGED BY MOSQUITOES AND THEIR INFECTION WITH MALARIA AGENT

V. V. Yasjukevich, S. P. Rasnitsyn, A. B. Zvanov

Key words: mosquitoes, malaria plasmodia

S U M M A R Y

The infection of mosquitoes with malaria plasmodia was found to be affected by relative (to full portion) blood amount of the infected donor, which they suck out, i. e. to what extent the engorged portion approximates to the limiting one when mosquitoes cease bloodsucking.

The facts obtained show that the survival of plasmodia in a mosquito (most likely, the passing of ookinetes into the outer side of the mid-gut) is associated with the degree of its stretching during bloodsucking. The limit stretching may be also attained during feeding up on a healthy donor.
